

Artículo original

Limitaciones de la determinación de los niveles de los biomarcadores séricos durante el aislamiento de venas pulmonares

Maciej Wojcik^{a,b,*}, Sebastien Janin^a, Malte Kuniss^a, Alexander Berkowitsch^a, Damir Erkapic^a, Sergey Zaltsberg^a, Katherina Madlener^a, Andrzej Wysokinski^b, Christian W. Hamm^a, Heinz F. Pitschner^a y Thomas Neumann^a

^aDepartamento de Cardiología, Centro Cardiológico Kerckhoff, Bad Nauheim, Alemania

^bDepartamento de Cardiología, Universidad de Medicina de Lublin, Lublin, Polonia

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 7 de febrero de 2010

Aceptado el 25 de agosto de 2010

On-line el 17 de diciembre de 2010

Palabras clave:

Biomarcadores

Lesión miocárdica

Fibrilación auricular

Aislamiento de venas pulmonares

Ablación con radiofrecuencia

Crioablación con balón

Creatinina

Isoenzima miocárdica de la creatinina

Troponina cardíaca

RESUMEN

Introducción y objetivos: Se han usado varios biomarcadores para la evaluación y la cuantificación de la lesión miocárdica tras ablación. Estudiamos las posibles diferencias en la estabilidad térmica y las posibilidades de uso de las proteínas liberadas por las células cardíacas lesionadas mediante diferentes fuentes de energía.

Métodos: En primer lugar, estudiamos la estabilidad térmica *in vitro* de la creatinina (CK), la isoenzima miocárdica de la creatinina (CK-MB), las troponinas I (cTnI) y las troponinas T (cTnT) en muestras de sangre obtenidas de 15 pacientes con infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST (IAMCEST) confirmado. En segundo lugar, se obtuvieron y se analizaron los biomarcadores en 82 pacientes tratados mediante ablación con radiofrecuencia (ARF) y en 79 pacientes tratados mediante crioablación con balón (CAB).

Resultados: Los experimentos *in vitro* mostraron que todos los biomarcadores eran estables a temperaturas bajas (-30 °C). Las troponinas se mostraron estables al analizarlas a altas temperaturas. En cambio, se observó un descenso importante en los valores de CK y CK-MB a 50 y 40 °C, respectivamente. El estudio *in vivo* mostró que el aumento de las cifras de CK-MB fue significativamente elevado en pacientes sometidos a CAB exclusivamente. Se observaron valores patológicos de CK-MB en el 24% de los pacientes con ARF y en el 98% de los pacientes sometidos a CAB. Se observaron valores patológicos de cTnI en todos los pacientes y el aumento de la concentración de cTnI fue muy significativo en ambos grupos tras la ablación.

Conclusiones: Tanto los resultados *in vitro* como los obtenidos *in vivo* muestran que la CK-MB no puede usarse para la determinación cuantitativa de las lesiones miocárdicas producidas por la energía de radiofrecuencia. Sólo las troponinas reflejan las lesiones miocárdicas independientemente de la fuente de energía, y se debería utilizarlas para comparar los efectos en los biomarcadores de la crioablación frente a la ablación con radiofrecuencia.

© 2010 Sociedad Española de Cardiología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Limitations of Biomarkers Serum Levels During Pulmonary Vein Isolation

ABSTRACT

Introduction and objectives: Several biomarkers have been used for evaluation and quantification of myocardial injury after effective ablation. We studied possible different thermal stability and usability of the proteins released by cardiac cells injured by different energy sources.

Methods: Firstly, we tested *in vitro* thermal stability of creatinine kinase (CK), myocardial bound creatinine kinase (CKMB), cardiac troponins I (cTnI) and cardiac troponins T (cTnT) in collected blood samples from 15 patients (pts) with confirmed ST-segment elevated myocardial infarction (STEMI). Secondly, the biomarkers were collected and analyzed in 82 pts treated with radiofrequency ablation (RFA) and in 79 pts treated with cryo-balloon ablation (CBA).

Results: *In vitro* experiment showed that all biomarkers were stable in low temperature of -30°C. Troponins were stable in the high temperatures analyzed. A substantial drop in CK and CKMB levels were measured at 50 °C and 40 °C, respectively. *In vivo* study showed that the increase in CKMB levels was highly significant in CBA pts only. Pathological CKMB values were observed in 24% of RFA pts and 98% of CBA pts. Pathological cTnI values were observed in all pts and the rise in cTnI levels was highly significant in both groups after ablation.

Conclusions: Both *in vitro* and *in vivo* results show that CKMB cannot be used for quantitative determination of myocardial injury produced by radiofrequency energy. Only cardiac troponins reflect

Keywords:

Biomarkers

Myocardial injury

Atrial fibrillation

Pulmonary vein isolation

Radiofrequency ablation

Cryoballoon ablation

Creatinine kinase

Myocardial bound creatinine kinase

Cardiac troponin

* Autor para correspondencia: Department of Cardiology, Medical University of Lublin. SPSK Nr 4, ul.Jaczewskiego 8, Lublin, Polonia.

Correo electrónico: m.wojcik@am.lublin.pl (M. Wojcik).

myocardial injury, regardless of energy source, and may be considered in future studies for comparison of biomarkers effects of cryo versus radiofrequency ablation.

Full English text available from: www.revespcardiol.org

© 2010 Sociedad Española de Cardiología. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Abreviaturas

AVP: aislamiento de venas pulmonares

CAB: crioablación con balón

FA: fibrilación auricular

VP: vena pulmonar

RF: radiofrecuencia

INTRODUCCIÓN

La corriente de radiofrecuencia (RF) se usa como fuente habitual de energía para llevar a cabo el aislamiento de venas pulmonares (AVP) por vía percutánea en una gran mayoría de los pacientes con fibrilación auricular (FA). Durante los últimos años también se ha recurrido a la técnica con criobalón como nueva modalidad para llevar a cabo el AVP^{1–3}. Puesto que varios marcadores se han demostrado útiles para el diagnóstico y la evaluación de la magnitud de la lesión miocárdica tras un episodio isquémico grave, muchos autores han tratado de implementar diferentes biomarcadores para poder evaluar y cuantificar la magnitud de las lesiones por ablación^{4–12}.

La ablación tisular produce una necrosis miocárdica inmediata, y el proceso habitualmente es más lento en los episodios isquémicos. En consecuencia, la liberación de marcadores de lesiones miocárdicas tiene lugar antes^{5,6}. Un problema adicional que aparece al analizar la liberación de biomarcadores tras la lesión derivada de la ablación es la influencia de las temperaturas bajas o altas en su estabilidad. Aún no hay consenso sobre si lograr una temperatura efectiva intratisular de 42 °C durante la ablación puede conducir o no a la desnaturalización de la estructura de los biomarcadores¹³. En tal caso, los resultados sobre la actividad y la concentración de los biomarcadores no tendrían ninguna fiabilidad. Sólo un artículo¹⁴, publicado en 1995, describe la inactivación de la creatincinasa (CK) a 65 °C.

Los estudios, tanto antiguos como publicados recientemente, usaron la CK, la isoenzima miocárdica de la creatincinasa (CK-MB) y la troponina I cardíaca (cTnI) y la troponina T (cTnT) para evaluar la lesión en el miocardio tras la ablación^{4–12}. Algunos resultados arrojaron dudas sobre la fiabilidad de las determinaciones que mostraron erróneamente pequeños aumentos de la CK y la CK-MB tras la ablación efectiva con radiofrecuencia (ARF). Por lo tanto, sometimos a examen la hipótesis sobre las posibles diferencias en la estabilidad térmica de las proteínas liberadas por las células cardíacas tras ser lesionadas mediante diferentes fuentes de energía. Además, los estudios publicados que describen la estabilidad *in vitro* de los biomarcadores a diferentes temperaturas son escasos^{15,16}. Si conociéramos la influencia de las diferentes temperaturas en los valores de los biomarcadores, podríamos comprender mejor el grado de éxito o fracaso de la ablación en determinados pacientes.

El primer paso del estudio consistió en ensayar, en un experimento conjunto *in vitro*, la estabilidad térmica de los biomarcadores cardíacos estudiados. El segundo objetivo fue clarificar qué biomarcadores podían utilizarse en la evaluación, la cuantificación y la comparación de las lesiones producidas por

diferentes fuentes de energía. Llevamos a cabo la determinación de la concentración sérica de biomarcadores cardiospecíficos, antes y después de la ablación, como indicadores de la masa celular lesionada.

MÉTODOS

Estudio *in vitro* de la estabilidad térmica y de la resistencia térmica de los biomarcadores cardíacos

Obtuvimos muestras de sangre de 10 ml de 15 pacientes que habían sufrido infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST (IAMCEST) confirmado. La mediana de tiempo hasta el episodio índice de IAMCEST fue de 13,7 h.

Tras centrifugar durante 15 min a 3.000 rpm, se recogió el suero sobrenadante y se determinó la actividad de la CK y la CK-MB y la concentración sérica de cTnI y cTnT a 37 °C durante 1 h. Este valor se definió como valor basal. Cada paciente fue su propio control.

Las muestras de suero restantes se almacenaron a –30 °C durante las 2 semanas siguientes. Transcurrido ese tiempo, las muestras se descongelaron y se analizaron de nuevo a 37 °C para estudiar la influencia de la congelación. Otras 5 muestras de cada paciente se incubaron por separado en una cubeta térmica a 40, 45, 50, 55 y 60 °C durante 5 min cada una. Posteriormente se determinó la concentración final a 37 °C.

Utilizamos kits de laboratorio convencionales: CL NAC, CKMBL, Troponin T (Roche®) y STAT Troponin I (Abbott®). La reproducibilidad de las concentraciones en todos los biomarcadores estudiados, obtenida mediante triplicados de las muestras, fue de $\pm 10\%$. La calidad de los resultados se confirmó en el laboratorio de bioquímica central de nuestro centro de cardiología mediante control de calidad transcurridos 6 meses.

Estudio *in vivo*

La población del estudio consistió en 161 pacientes consecutivos con FA sintomática y resistente a fármacos, documentada al menos en dos electrocardiogramas en los 3 meses previos a la intervención de ablación. La indicación de la ablación se basó en las directrices vigentes¹⁷. Se excluyó del estudio a los pacientes con concentraciones iniciales desconocidas o elevadas de cualquiera de los marcadores estudiados (cTnI, CK-MB) en el periodo basal.

Los riesgos derivados de la intervención se explicaron con detalle a todos los pacientes y se obtuvo su consentimiento informado por escrito antes de la ablación. El estudio contó con la aprobación del comité ético local. Las características generales de la población de estudio se muestran en la [tabla 1](#).

Procedimiento de ablación

Alcanzamos la aurícula izquierda mediante abordaje transeptal doble y realizamos una angiografía selectiva de las venas pulmonares (VP). La ARF se realizó con un catéter Thermo-cool 7F irrigado de 4 mm (Biosense Webster, Diamond Bar, Estados Unidos). El criterio de valoración de la ablación fue la desaparición total de potenciales de VP. Usamos un catéter MESH (catéter de cartografía de malla de alta densidad; Bard Electrophysiology,

Tabla 1
Características de los pacientes*

	Grupo RF			Grupo CAB			p
	Mediana	25	75	Mediana	25	75	
Pacientes	82	x	x	79	X	X	NS
FAP	48	x	x	76	x	x	< 0,001
Varones	61	x	x	49	x	x	NS
Edad [años]	57	49	65	56	49	63	NS
Eje largo de la ETT [mm]	56	51	61	53	48	56	0.002
Eje corto de la ETT [mm]	40	37	42	38	35	41	0.01
FEVI por ETT (%)	60	55	62	60	58	65	0.004
Hipertensión	53	x	x	42	x	x	NS
Coronariopatía	10	x	x	7	x	x	NS
IMC	27	25	29	26	23	28	NS
Otras enfermedades cardíacas	9	x	x	5	x	x	NS

AFP: pacientes con fibrilación auricular paroxística; ETT: ecocardiografía transtorácica; FEVI: fracción de eyección ventricular izquierda; IMC: índice de masa corporal; NS: estadísticamente no significativo; RF: radiofrecuencia.

* Los datos expresan n o mediana [intervalo intercuartílico].

Lowell, Massachusetts, Estados Unidos) colocado en el *ostium* de cada VP. En los pacientes con FA crónica (FAC) se provocaron lesiones adicionales (línea del techo, línea del istmo mitral). La crioablación con balón (CAB) se realizó con un balón de doble pared (Arctic Front, Cryocath). El tiempo de aplicación fue de 240-360 s por congelación. El AVP se confirmó con un catéter Lasso (Biosense Webster). El procedimiento se ha descrito recientemente con detalle³. También se calculó y se registró el número de aplicaciones, la energía de RF y el tiempo de congelación acumulados.

Determinación de biomarcadores en pacientes sometidos a ablación con radiofrecuencia y a crioablación con balón

Se obtuvieron muestras de sangre durante la punción venosa antes de la ablación y 1, 6 y 24 h después de la ablación. Todas las muestras de sangre se analizaron mediante los kits de laboratorio convencionales ya mencionados. Los valores de referencia de la CK-MB y la cTnI para el diagnóstico de infarto de miocardio (25 y 0,01 ng/ml respectivamente) se consideraron como patológicamente aumentados.

Análisis estadístico

Los datos paramétricos se expresaron como mediana [intervalo intercuartílico 25-75]. Para el análisis paramétrico se utilizó el test de la U de Mann-Whitney y para los datos no paramétricos, la prueba de la χ^2 o el test exacto de Fisher. Los valores de $p < 0,05$ se consideraron como estadísticamente significativos.

RESULTADOS

Estabilidad in vitro de los biomarcadores a diferentes temperaturas

Encontramos un descenso importante del 46% en la actividad de la CK medida a 50 °C. El calentamiento de las muestras de sangre a 50 y 60 °C dio lugar a una caída de las concentraciones de CK muy por debajo de los valores basales. La CK-MB, con mayor especificidad cardíaca, reacciona en mayor medida a la exposición al calor, con un importante descenso del 48% a 40 °C (fig. 1A) y otro descenso a temperaturas superiores. Ambas troponinas (cTnT y

cTnI) sólo mostraron pequeños cambios de $\pm 10\%$ a diferentes temperaturas (fig. 1B y C). La dispersión de los datos en porcentajes de medianas, para expresar la estabilidad de los biomarcadores expuestos a diferentes temperaturas, osciló entre el 8 y el -12%.

Estudio in vivo

Las características de los pacientes se presentan en la tabla 1. La ARF se practicó en 82 pacientes: 48 con FA paroxística (FAP) y 34 con FAP persistente o FAC.

El grupo de CAB consistió en 79 pacientes e incluyó sólo a 3 pacientes con FAC. Las diferencias significativas en cuanto al tamaño de la aurícula izquierda (AI) y en la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) entre los grupos se dieron, como era de esperar, en el mayor número de pacientes con CAF en el grupo tratado con ARF.

Ninguno de los pacientes refirió síntomas de posible isquemia ni presentó signos de episodios de isquemia coronaria, ni antes ni al final del procedimiento. No encontramos ningún cambio en el segmento ST al comparar las curvas electrocardiográficas obtenidas antes, durante y después del procedimiento.

En el caso de la CK-MB, no se produjo aumento significativo tras la ablación respecto a los valores basales en el grupo de ablación con RF (fig. 2). Sólo la mediana de las muestras obtenidas a la sexta hora se encontró en el límite de la significación ($p = 0,05$). Ahora bien, el aumento de la CK-MB tras la CAB resultó altamente significativo en los controles. El factor de comparación de los valores máximos (picos) fue 2,6 veces superior en el grupo de la CAB ($p < 0,05$). Se observaron valores patológicos de CK-MB en el 24% de los pacientes sometidos a ARF y en el 98% de los pacientes sometidos a CAB.

El aumento de la cTnI fue altamente significativo en ambos grupos tras la ablación (fig. 3). La mediana de los valores máximos en el grupo sometido a RF fue de 1,29 [0,86-1,86] ng/ml y fue 1,4 veces el valor correspondiente del grupo sometido a CAB, 0,89 [0,62-1,25] ng/ml. La diferencia no mostró significación estadística ($p = 0,05$). Se observaron valores patológicos de cTnI en todos los pacientes.

A 19 pacientes sometidos a RF y 8 sometidos a CAB, se les aplicó una cardioversión con corriente continua (CC). Al analizar los valores de la CK, que hipotéticamente podrían estar afectados por la CC, no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los sujetos que requirieron CC para restaurar el ritmo sinusal ni en el resto de la población estudiada.

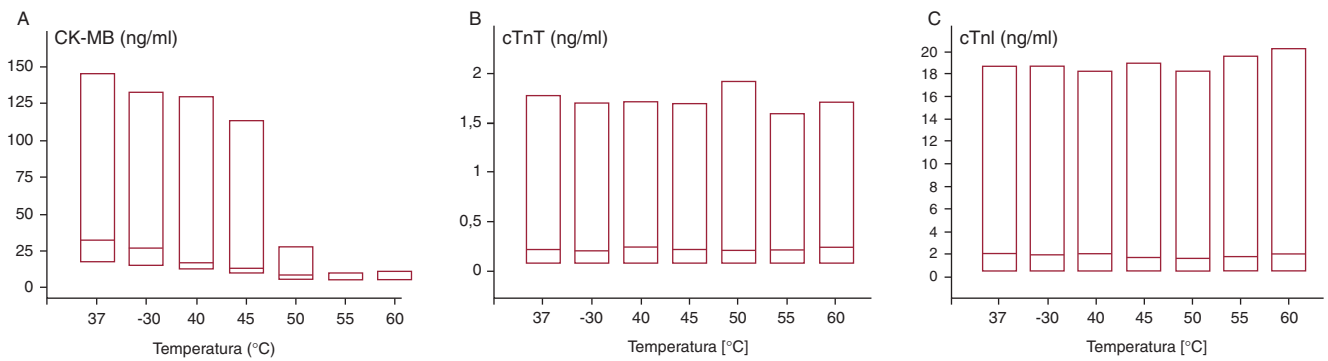


Figura 1. Estudio *in vitro*. A) Estabilidad térmica de la isoenzima miocárdica de la creatincinasa (CK-MB). B) Troponina cardiaca T (cTnT). C) Troponina cardiaca I (cTnI). Los datos se presentan como diagramas de cajas con la mediana [intervalo intercuartílico].

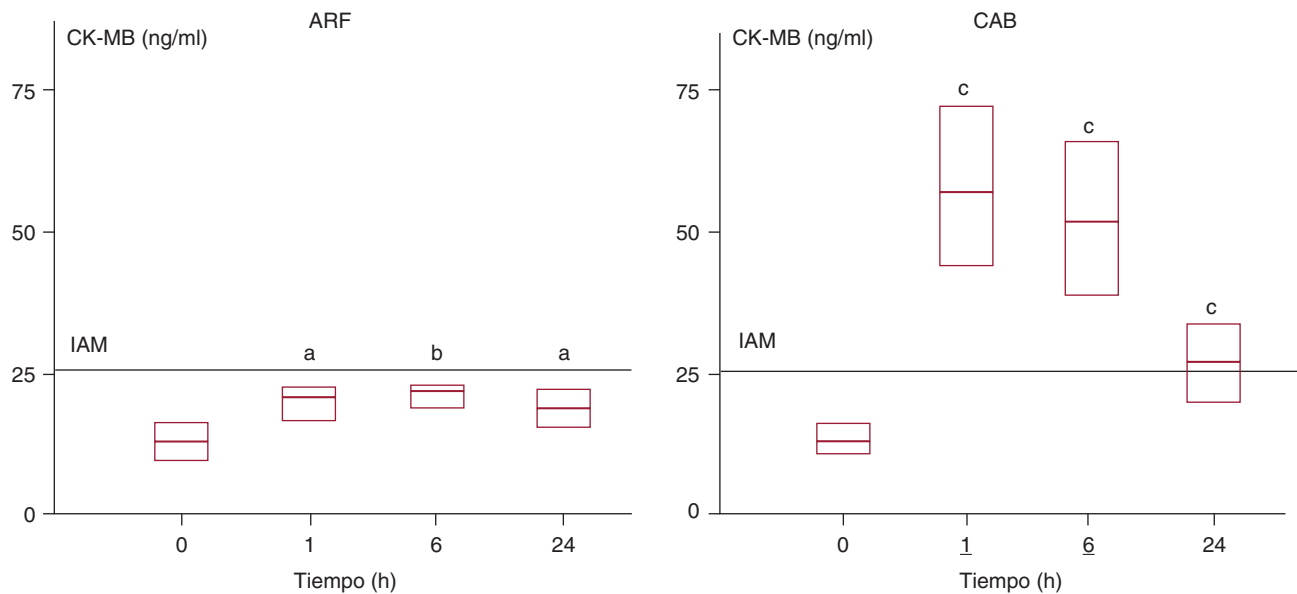


Figura 2. Comparación de la cinética de la isoenzima miocárdica de la creatincinasa (CK-MB) en los grupos con radiofrecuencia (ARF) y con crioblación con balón (CAB). Los datos se presentan como diagramas de cajas con la mediana [intervalo intercuartílico]. IAM: nuestro valor de laboratorio de referencia de la CK-MB (25 ng/ml) para la detección del infarto de miocardio. ^aDiferencia estadísticamente no significativa ($p = 0,5$) en comparación con la determinación del valor basal. ^bDiferencia estadísticamente significativa ($p = 0,005$) en comparación con la determinación del valor basal. ^cDiferencia estadísticamente significativa ($p < 0,0001$) en comparación con la determinación del valor basal.

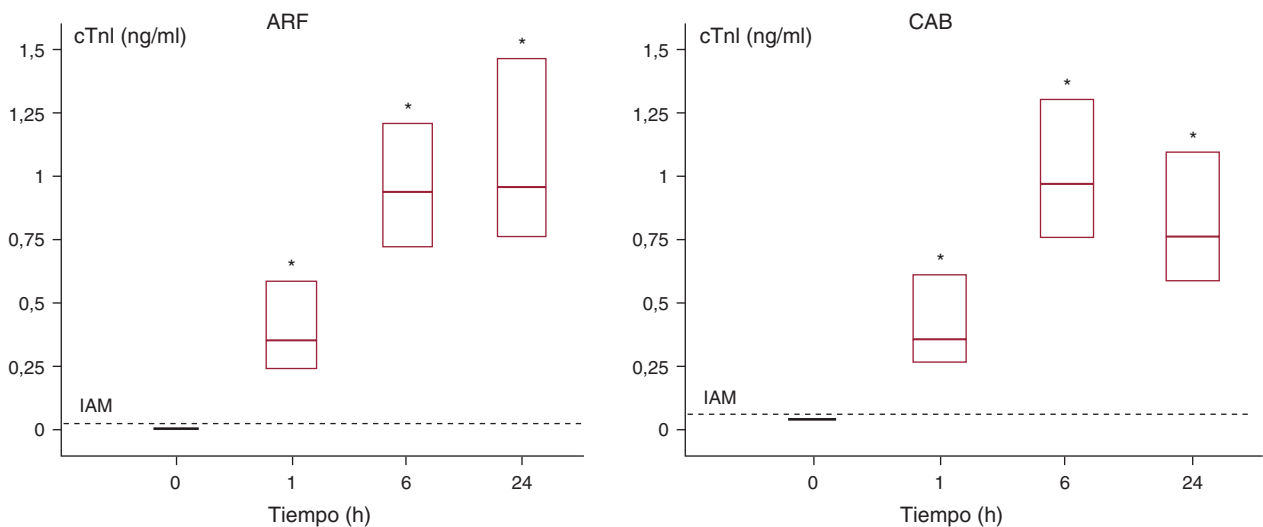


Figura 3. Comparación de la cinética de la troponina I cardiaca (cTnI) en los grupos con radiofrecuencia (ARF) y con crioblación con balón (CAB). Los datos se presentan como diagramas de cajas con la mediana [intervalo intercuartílico]. *Diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,0001$) en comparación con la determinación del valor basal.

DISCUSIÓN

El resultado principal de nuestro estudio es que se observaron valores patológicos de la cTnI en todos los pacientes, independientemente de la fuente de energía usada, y se observaron valores patológicos de la CK-MB en el 24 y el 98% de los pacientes sometidos a ARF y a CAB, respectivamente.

Desnaturalización de los biomarcadores cardiacos por la temperatura

La determinación *in vitro* que llevamos a cabo pretendía evaluar las resistencias térmicas y la estabilidad de los biomarcadores cardiacos. Observamos las diferentes sensibilidades a la temperatura de los biomarcadores estudiados. Tanto la cTnI como la cTnT fueron estables a todas las temperaturas estudiadas.

La actividad detectada de CK-MB y CK cayó repentinamente a casi el 50% respecto a sus valores basales a 40 y 50 °C, respectivamente. Nuestras observaciones clínicas son afines a nuestro experimento de calentamiento *in vitro*. El proceso de desnaturalización de la CK-MB liberada se inicia a las mismas temperaturas a las que se produce el daño celular en la ARF eficaz¹³. La pérdida de concentraciones detectables de CK se inicia a mayores temperaturas. La caída de sensibilidad también comienza en la gama de temperaturas deseadas para una temperatura intratisular que se sitúa entre 45 y 60 °C durante la ARF.

La temperatura inferior en nuestro estudio *in vitro* fue de -30 °C, que fue aún mayor que las temperaturas determinada durante la CAB eficaz (habitualmente < -40 °C). Ahora bien, esta temperatura es suficientemente baja para suponer la muerte celular, con rotura de las membranas celulares, debido a la formación de cristales de hielo que comienza mucho antes, a -10 °C¹⁸. No encontramos ninguna influencia importante de la baja temperatura en la actividad detectable de los cuatro biomarcadores estudiados. Nuestras observaciones son similares a las descritas por Buttery et al¹⁵, que confirmaron la estabilidad de la CK-MB a -20 °C, y Woltersdorf et al¹⁶, que describieron la ausencia de cambios significativos en la concentración sérica de las troponinas y de actividad de la CK. Sorprendentemente, la concentración de CK-MB aumentó significativamente en las muestras congeladas, pero la temperatura de almacenamiento (-70 °C) fue la mitad que en nuestro estudio *in vitro* o incluso más baja.

Determinación de biomarcadores en pacientes sometidos a ablación con radiofrecuencia

Nuestras observaciones son similares a las descritas por otros autores⁴⁻⁸. Hirose encontró sólo una correlación significativa para la cTnT en relación con la cantidad acumulada de energía RF aplicada, pero el estudio se limitó a cuatro tipos de arritmias diferentes con muy diverso número de aplicaciones necesarias para la ablación en estos 34 pacientes⁴. Otros autores⁶ también comunicaron una precisión diagnóstica de la cTnI superior a la de CK-MB en grupos no homogéneos de pacientes tras la ARF⁵⁻⁷. En una gran cohorte de 118 pacientes con seis tipos diferentes de arritmias, sólo se encontró una correlación importante respecto a los cambios de concentración de la cTnI⁸. El valor basal medio de la actividad de la CK-MB fue extremadamente bajo (0,6 U/l), en comparación con nuestro estudio y con otros^{5,6,11}. Además, presumía que una desactivación térmica parcial de la actividad de la CK y la desnaturalización de la CK-MB eran razones que explicaban la falta de correlación para la aplicación de energía de RF. Su suposición⁸ de la dependencia térmica debida a cambios estructurales de la CK se basaba, al igual que en el caso de otros

autores^{4-7,9-12}, en el estudio de Haines et al¹⁴. Ese es el único artículo en la literatura que describe la inactivación térmica de la CK en biopsias de corazones de perro tras ablaciones con energía de RF o tras el calentamiento directo de las muestras de tejido. Como temperatura crítica midió 65 °C, que parece demasiado elevada en comparación con nuestros resultados *in vitro*. Tampoco se midió la temperatura intratisular.

Algunos estudios han mostrado un aumento significativo de la concentración de CK-MB tras la ARF⁹⁻¹¹. Aunque esto parece estar en contradicción con nuestros resultados, este fenómeno puede explicarse por las bajas temperaturas intratisulares efectivas (40-45 °C) alcanzadas durante la ablación en diferentes partes del corazón, especialmente en la región del nodo auriculoventricular. Es conocida la existencia de un gradiente intramural negativo de temperatura a partir del subendocardio. Hay alguna probabilidad de que, en algunas de sus aplicaciones de RF, no se alcanzara la temperatura crítica para la inactivación de la CK en la masa del miocardio afectado.

Determinación de biomarcadores en pacientes sometidos a crioablación con balón

Un único artículo que describía los biomarcadores de daño miocárdico tras la crioablación demostró valores máximos significativamente superiores tanto de la CK-MB como de la cTnT a las 6 h de la ablación¹². Los resultados concuerdan con nuestras observaciones. Aunque nosotros medimos la cTnI y no la cTnT, también observamos valores superiores de la cTnI en la muestra obtenida a las 6 h en los pacientes sometidos a CAB. Los autores argumentaron que los valores superiores de la CK-MB en el grupo de crioablación reflejan la formación de lesiones diferentes y el uso de introductores mayores (de 10 Fr) en el grupo de la crioablación produjo valores más elevados¹². Teniendo presentes nuestros resultados *in vitro*, nos atrevemos a afirmar que fue más bien consecuencia de la inestabilidad térmica de los biomarcadores en un entorno de RF.

Limitaciones

El mayor número de pacientes con FAC en el grupo sometido a ARF que en el grupo sometido a CAB posiblemente sesgue los resultados a favor del grupo de RF al comparar la cTnI en ambos grupos. No podemos comentar la cinética detallada de los biomarcadores, ya que no se obtuvieron muestras de sangre entre las horas 6 y 24. No podemos olvidar que alcanzar temperaturas de -70 °C e inferiores puede producir un aumento de la concentración medida de CK-MB. Por otro lado, la temperatura mediana más baja observada durante la CAB en la población del estudio rondaba los -40 °C.

CONCLUSIONES

Tanto los resultados *in vitro* como los obtenidos *in vivo* muestran que la CK-MB no puede usarse para la determinación cuantitativa de la lesión miocárdica producida por la energía de RF. Sólo las troponinas reflejan la lesión miocárdica independientemente de la fuente de energía y se podrá considerarlas en estudios futuros para comparar los efectos en los biomarcadores de la crioablación frente a la ablación con RF.

CONFLICTO DE INTERESES

Maciej Wojcik recibió una beca de la *European Heart Rhythm Association* (Asociación Europea del Ritmo Cardíaco) (2 años de

residencia en electrofisiología clínica). Sebastien Janin recibió una beca de la *Fédération Française de Cardiologie* (Federación Francesa de Cardiología).

BIBLIOGRAFÍA

1. Chun KR, Schmidt B, Metzner A, Tilz R, Zerm T, Koster I, et al. The 'single big cryoballoon' technique for acute pulmonary vein isolation in patients with paroxysmal atrial fibrillation: a prospective observational single centre study. *Eur Heart J*. 2009;30:699-709.
2. Van Belle Y, Janse P, Theuns D, Szili-Torok T, Jordaens L. One year follow-up after cryoballoon isolation of the pulmonary veins in patients with paroxysmal atrial fibrillation. *Europace*. 2008;10:1271-6.
3. Neumann T, Vogt J, Schumacher B, Dorszewski A, Kuniss M, Neuser H, et al. Circumferential pulmonary vein isolation with the cryoballoon technique results from a prospective 3-center study. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52:273-8.
4. Hirose H, Kato K, Suzuki O, Yoshida T, Oguri M, Yajima K, et al. Diagnostic accuracy of cardiac markers for myocardial damage after radiofrequency catheter ablation. *J Interv Card Electrophysiol*. 2006;16:169-74.
5. Madrid AH, Del Rey JM, Rubi J, Ortega J, Gonzalez Rebollo JM, Seara JG, et al. Biochemical markers and cardiac troponin I release after radiofrequency catheter ablation: approach to size of necrosis. *Am Heart J*. 1998;136:948-55.
6. Del Rey JM, Madrid AH, Valino JM, Rubi J, Mercader J, Moro C, et al. Cardiac troponin I and minor cardiac damage: biochemical markers in a clinical model of myocardial lesions. *Clin Chem*. 1998;44:2270-6.
7. Emkanjoo Z, Mottadayen M, Givtaj N, Alasti M, Arya A, Haghighi M, et al. Evaluation of post-radiofrequency myocardial injury by measuring cardiac troponin I levels. *Int J Cardiol*. 2007;117:173-7.
8. Manolis AS, Vassilikos V, Maounis T, Melita-Manolis H, Psarros L, Haliasos A, et al. Detection of myocardial injury during radiofrequency catheter ablation by measuring serum cardiac troponin I levels: procedural correlates. *J Am Coll Cardiol*. 1999;34:1099-105.
9. Carlsson J, Erdogan A, Guettler N, Schulte B, Lay D, Neuzner J, et al. Myocardial injury during radiofrequency catheter ablation: comparison of focal and linear lesions. *Pacing Clin Electrophysiol*. 2001;24:962-8.
10. Katritsis DG, Hossein-Nia M, Anastasakis A, Poloniecki J, Holt DW, Camm AJ, et al. Myocardial injury induced by radiofrequency and low energy ablation: a quantitative study of CK isoforms, CK-MB, and troponin-T concentrations. *Pacing Clin Electrophysiol*. 1998;21:1410-6.
11. Pudil R, Parizek P, Tichy M, Haman L, Horakova L, Ulrychova M, et al. Use of the biochip microarray system in detection of myocardial injury caused by radiofrequency catheter ablation. *Clin Chem Lab Med*. 2008;46:1726-8.
12. Oswald H, Gardiwal A, Lissel C, Yu H, Klein G. Difference in humoral biomarkers for myocardial injury and inflammation in radiofrequency ablation versus cryoablation. *Pacing Clin Electrophysiol*. 2007;30:885-90.
13. Bromer RH, Mitchell JB, Soares N. Response of human hematopoietic precursor cells (CFUc) to hyperthermia and radiation. *Cancer Res*. 1982;42:1261-5.
14. Haines DE, Whayne JG, Walker J, Nath S, Bruns DE. The effect of radiofrequency catheter ablation on myocardial creatine kinase activity. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 1995;6:79-88.
15. Buttery JE, Stuart S, Pannall PR. Stability of the CK-MB isoenzyme on routine storage. *Clin Biochem*. 1992;25:11-3.
16. Woltersdorf WW, Bayly GR, Day AP. Practical implications of in vitro stability of cardiac markers. *Ann Clin Biochem*. 2001;38:61-3.
17. Fuster V, Ryden LE, Cannom DS, Crijns HJ, Curtis AB, Ellenbogen KA, et al. ACC/AHA/ESC 2006 Guidelines for the Management of Patients with Atrial Fibrillation: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 2001 Guidelines for the Management of Patients With Atrial Fibrillation): developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association and the Heart Rhythm Society. *Circulation*. 2006;114:e257-354.
18. Mazur P. Physical-chemical factors underlying cell injury in cryosurgical freezing. En: Rand R, Rinfred A, VonLeden H, editores. *Cryosurgery*. Springfield: Charles Thomas; 1967. p. 32-51.